

Avaliação das propriedades antioxidantes dos adoçantes naturais: stevia e eritritol

DOI: 10.5281/zenodo.14013304

Larissa Cavalcante Antunes^{a*}, Ana Cristi B. Dias^{a&}.

Sweeteners have been widely used as sugar substitutes by people with chronic conditions, such as diabetes and hyperinsulinemia, due to their low glycemic index. Additionally, some natural sweeteners exhibit antioxidant properties, which may help in the treatment of these conditions. Thus, this study aims to evaluate the antioxidant properties of the natural sweeteners, stevia and erythritol, using different types of solvents and concentrations. The analyses were conducted using the DPPH method, with readings taken on a UV-Vis spectrophotometer.

Os adoçantes têm sido amplamente utilizados como substitutos do açúcar por pessoas com doenças crônicas, como diabetes e hiperinsulinemia, devido ao seu baixo índice glicêmico. Além disso, alguns adoçantes naturais apresentam propriedades antioxidantes, que podem auxiliar no tratamento dessas condições. Assim, este estudo visa avaliar as propriedades antioxidantes dos adoçantes naturais, stevia e eritritol, utilizando diferentes tipos de solventes e concentrações. As análises foram realizadas pelo método DPPH, com leituras no espectrofotômetro UV-Vis.

^aUniversidade de Brasília (UnB). Campus Darcy Ribeiro. Instituto de Química (IQ/UnB).

*E-mail: Larissa.c.antuness@gmail.com

&E-mail: acbdias@unb.br

Palavras-chave: Adoçantes naturais; eritritol, stevia; DPPH; capacidade antioxidante.

Recebido em 08 de setembro de 2024,

Aprovado em 16 de outubro de 2024,

Publicado em 31 de outubro de 2024.

Introdução

Historicamente, os adoçantes têm sido utilizados como substitutos do açúcar por pessoas com doenças crônicas, como diabetes, obesidade mórbida, hiperinsulinemia e outras disfunções endócrinas, devido ao seu baixo índice glicêmico.^{1,2} Além disso, seu baixo teor calórico os torna atrativos para o consumo em dietas. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os adoçantes ou edulcorantes são substâncias naturais ou artificiais/sintéticas que conferem sabor doce aos alimentos e bebidas. Entre os edulcorantes sintéticos mais utilizados estão a sacarina, o acesulfame-K, o ciclamato de sódio e a sucralose. Já entre os naturais, destacam-se o xilitol, o eritritol e a stevia, sendo estes dois últimos os mais propensos a oferecer benefícios à saúde devido às suas propriedades antioxidantes.^{2,3}

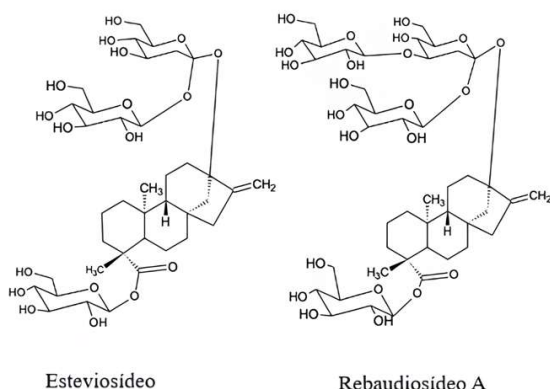
O surgimento e a progressão de doenças crônicas e neurodegenerativas estão relacionados ao estresse oxidativo, que ocorre devido ao desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade do organismo em neutralizá-los por meio de defesas antioxidantes.¹ Esse estresse oxidativo é causado pelo excesso de radicais livres, que são gerados constantemente no metabolismo celular e em diversos processos patológicos.^{1,4} O sistema de defesa antioxidante tem

a função de inibir ou reduzir os danos provocados pelos radicais livres. Assim, a capacidade antioxidante de adoçantes naturais, como a stevia e o eritritol, é de grande importância no tratamento de doenças crônicas.

A stevia, um adoçante natural proveniente da planta *Stevia rebaudiana*, nativa da América do Sul, particularmente no Brasil e Paraguai, sendo também desenvolvida na Europa e Ásia. Da planta são extraídas o esteviosídeo e rebaudiosídeo, ilustrados na Figura 1, que são os glicosídeos majoritários e responsáveis pelo sabor doce da stevia, que possui 400 vezes mais dulçor que a sacarose, sendo utilizadas como edulcorantes para produzir chocolates, bolos, geleias, entre outros.¹

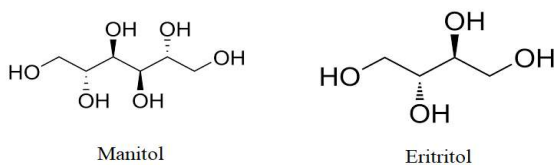
Devido à quantidade de compostos fenólicos presentes na estrutura molecular da stevia, é possível neutralizar os radicais livres gerados no metabolismo celular. Isto ocorre devido à presença de átomos de hidrogênio disponíveis para doação que inibe a formação ou propagação das moléculas oxidantes. Além disso, a folha de stevia contém outras substâncias com efeitos benéficos à saúde, sendo anti-hipertensivo, anti-inflamatório, antitumoral e bactericida.⁵

Figura 1. Estrutura química dos componentes da stevia, esteviosídeo e rebaudiosídeo. Extraído da referência 1.



O eritritol é adoçante natural utilizado na confecção de chocolates, leite fermentado e outros produtos de panificação, contendo um baixo valor calórico. Ele pode ser encontrado em pequenas quantidades em frutas, fungos e algas, sendo obtido por meio da fermentação.⁶ A sua doçura é em média de 65% maior que a da sacarose, entretanto não possui impacto no nível de glicose nem na insulina, podendo ser utilizado em pacientes que possuem diabetes mellitus. Devido a sua estrutura química ($C_4H_{10}O_4$) ser parecida com a do adoçante manitol ($C_6H_{14}O_6$), ilustrados na Figura 2, que possui a habilidade de eliminar radicais livres, o eritritol se mostra como um potencial para a presença de atividade antioxidante.^{3,7}

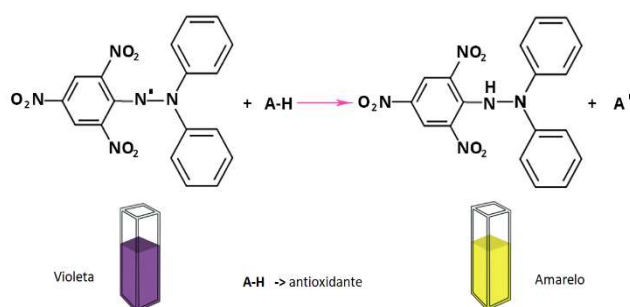
Figura 2. Estrutura química dos adoçantes manitol e eritritol. Extraído da referência 7.



A eficiência dos antioxidantes pode ser influenciada por diversos fatores, como temperatura, estrutura molecular e concentração. Para avaliar a capacidade antioxidante em substâncias, um dos parâmetros mais importantes é a cinética da reação, visto que mostra o tempo de proteção contra a oxidação das moléculas. Para medir a atividade antioxidante existem diferentes métodos e mecanismos que podem ser utilizados, sendo que um dos métodos frequentemente utilizados é a de transferência de radical por DPPH.⁸

O DPPH•, abreviação de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, é uma molécula de radical livre estável devido a deslocalização do elétron desemparelhado pela sua estrutura, possuindo uma intensa coloração violeta.⁸ Esse método é baseado no consumo deste radical por meio da doação de um elétron pelo composto antioxidante, ilustrado na Figura 3. Com o consumo deste radical ocorre a descoloração da solução para um tom amarelado, o que indica a eficácia da reação. Essa medição é realizada por espectrofotometria UV-Vis, verificando a diminuição da absorbância do radical DPPH, no comprimento de onda máximo (515~517 nm), após o início da reação.^{8,9}

Figura 3. Mecanismo de reação do DPPH para determinação da capacidade antioxidante. Extraído da referência 10.



Tendo em vista a utilização de edulcorantes por pessoas que possuem diabetes, obesidade, hiperinsulinemia ou outros tipos de morbidades, o presente trabalho tem como objetivo avaliar e determinar a atividade antioxidante dos adoçantes naturais, stevia e eritritol, a partir do método DPPH• com leitura no espectrofotômetro UV-Vis.

Metodologia

Para medir a capacidade antioxidante foram preparadas duas soluções reagentes de DPPH com o intuito de verificar uma medida mais adequada da absorbância, nas concentrações de $1,6 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ e $8 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, utilizando o metanol como solvente nas duas.⁴ Para as amostras de eritritol utilizou-se a sua forma em granel, preparando uma solução na concentração de $0,1 \text{ gL}^{-1}$ e para a stevia utilizou-se adoçantes de marcas comerciais em sachês, preparando soluções nas concentrações de $0,75 \text{ gL}^{-1}$ e $0,5 \text{ gL}^{-1}$. As soluções de eritritol e stevia foram preparadas, predominantemente, utilizando o metanol como solvente, entretanto, também foram testados a água e o etanol como solvente das soluções.

Após o preparo individual das soluções, realizou-se a mistura das soluções DPPH + eritritol e DPPH + stevia. Para isto se pipetou 2 mL da solução reagente (DPPH) e 2 mL da solução do adoçante selecionado em um vidro âmbar, deixando em repouso em um local escuro (armário) por 2 horas. No espectrofotômetro UV-Vis, mediu-se o branco (metanol) e determinou-se a absorção da solução de DPPH em 515 nm (pico de maior absorbância). Após 2 horas, determinou-se a absorção das amostras em 515 nm. Entre cada medida, lavou-se a cubeta de quartzo com metanol para limpá-la, diminuindo o erro das medidas, além disso, todas as amostras foram realizadas em triplicatas. Para o cálculo da porcentagem da atividade antioxidante, utilizou-se a equação 1.¹¹

$$AA \% = \frac{(A_c - A_a)}{A_c} \times 100 \tag{1}$$

Onde, A_{controle} (A_c) é a absorbância da solução reagente DPPH considerando o fator diluição, ou seja, é a solução imediatamente após ocorrer a mistura e A_{amostra} (A_a) a absorbância final da mistura após o tempo de reação.

Por fim, com o intuito de averiguar o tempo de equilíbrio da reação, foi realizada uma análise de cinética das soluções de eritritol e stevia. Além disso, foram medidos alguns espectros da composição do adoçante de stevia por meio do espectrofotômetro de infravermelho para observar se houve algum tipo de degradação com o tempo de exposição.

Resultados e discussão

Eritritol

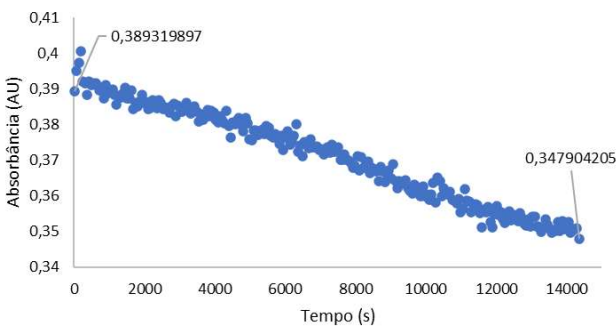
Para verificar qual solvente da solução de adoçante proporcionava uma maior capacidade antioxidante, foram realizadas análises utilizando o metanol, etanol e água, como solventes da solução do eritritol, na concentração de 0,1 gL⁻¹. Para tais análises utilizou-se a solução de DPPH na concentração de 1,6 x 10⁻⁴ molL⁻¹ e deixou-se as soluções em repouso por 2 horas.¹² Os resultados foram expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Relação da capacidade antioxidante em diferentes solventes.

Amostra	Capacidade Antioxidante (%)
DPPH + (eritritol em metanol)	4,40
DPPH + (eritritol em etanol)	2,44
DPPH + (eritritol em água)	0,07

Comparando os resultados nota-se que a amostra com metanol foi a que apresentou maior atividade antioxidante com 4,4%, desta forma, o metanol foi utilizado como solvente da solução em todas as análises. Para verificar o tempo de equilíbrio da reação da solução de DPPH (8 x 10⁻⁵ molL⁻¹) + Eritritol (0,1 gL⁻¹), realizou-se uma análise da cinética da reação no espectrofotômetro UV-Vis por 4 horas. O espectro apresentado na Figura 4, mostra que a solução não chegou em equilíbrio, indicando que a cinética da reação é lenta. Além disso, pelos valores de absorbância, foi possível verificar que a capacidade antioxidante em 4 horas foi de 10,34%. Isso pode estar relacionado à estrutura molecular do eritritol, visto que não possui nenhuma cadeia fenólica e poucos OH disponíveis, o que pode afetar na cinética da reação e na baixa atividade antioxidante.

Figura 4. Cinética da solução de DPPH + solução de Eritritol.

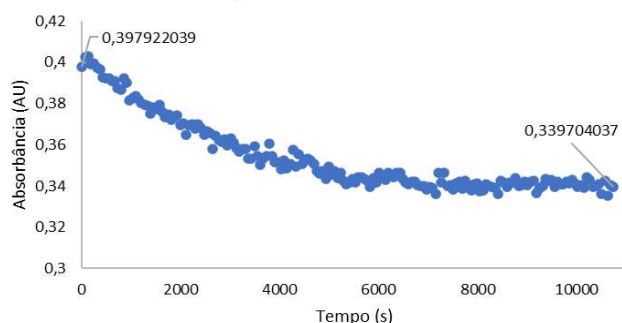


Stevia

Tendo em vista o estudo de solventes realizado para o adoçante eritritol, manteve-se o solvente metanol para as soluções com a stevia. Para verificar o tempo de equilíbrio da reação da solução de DPPH (8 x 10⁻⁵ molL⁻¹) + Stevia (0,5 gL⁻¹), realizou-se uma análise da cinética da reação no

espectrofotômetro UV-Vis por 3 horas, obtendo o espectro da Figura 5.

Figura 5. Cinética da solução DPPH + solução de Stevia.



A partir da Figura 5, observa-se que a solução tende ao equilíbrio, variando menos a absorbância após o período de 2 horas, indicando um menor tempo para o equilíbrio, quando comparada com o eritritol. Ademais, com os valores de absorbância, foi possível verificar que em 3 horas a solução de stevia apresenta 14,63% de atividade antioxidante. Este resultado pode estar vinculado diretamente a estrutura molecular da stevia, que apresenta mais grupos fenólicos. Além disso, ao comparar a solução de stevia nas concentrações de $0,5 \text{ gL}^{-1}$ e $0,75 \text{ gL}^{-1}$, observou-se que a primeira apresentou 0,52% de capacidade antioxidante a mais do que a segunda.

Para verificar a estabilidade da solução de stevia, foi realizada a leitura, por meio do espectrofotômetro de infravermelho, de duas soluções de stevia na concentração de $0,5 \text{ gL}^{-1}$ utilizando o metanol como solvente. Uma foi preparada três semanas antes da medida e a outra duas semanas antes, os espectros podem ser vistos, respectivamente, nas Figuras 6 e 7. Observando-as, nota-se que não houve degradação das soluções durante esse período de tempo, visto que as bandas características da solução permanecem nos dois espectros, sendo elas:

- Estiramento -C-O em 1023 cm^{-1} , a qual é mais intensa;
- Estiramento -OH em 3300 cm^{-1} ;
- Dobramento -C-H em 1453 cm^{-1} ;
- Estiramento simétrico -C-H em 2829 cm^{-1} ;
- Estiramento assimétrico -C-H em 2953 cm^{-1} .

Figura 6. Espectro de infravermelho da solução de stevia 3 semanas após preparação.

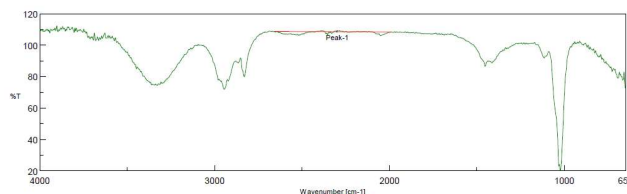
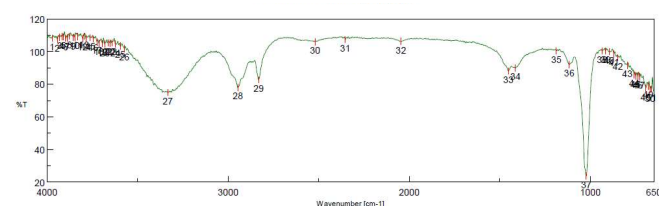


Figura 7. Espectro de infravermelho da solução de stevia 2 semanas após preparação.



Conclusões

Observou-se que o eritritol possui capacidade de neutralizar moléculas oxidantes, mas, devido à sua estrutura molecular, não contém cadeias fenólicas e possui poucos grupos OH disponíveis, sua cinética é lenta, resultando em baixa taxa de atividade antioxidante. Além disso, verificou-se que, para o método DPPH, o metanol foi o solvente mais adequado para a solução da amostra. Para o estudo da stevia, observou-se uma atividade antioxidante de 14,63% em 3 horas de cinética na concentração de $0,5 \text{ gL}^{-1}$. A partir desta cinética, foi possível verificar que seu comportamento tende a um tempo de equilíbrio mais rápido, o que pode estar atrelado à sua composição, com compostos fenólicos, e à concentração da amostra. Ademais, as soluções de stevia se mostraram estáveis no tempo de aproximadamente 1 mês, estando armazenadas em vidro âmbar no armário em temperatura ambiente, não havendo degradação.

Ao comparar os dois adoçantes a granel, a stevia se mostrou um edulcorante com uma maior capacidade antioxidante, tendo uma cinética mais rápida do que o eritritol. Entretanto, nenhuma das soluções obteve atividade acima de 20%, o que os tornam adoçantes com baixa capacidade antioxidante, nas concentrações estudadas.

Desta forma, em projetos futuros se faz necessário um estudo mais aprofundado da capacidade antioxidante da stevia em sua forma natural de folha, a qual pode conter uma maior atividade antioxidante.^{1,5} Sugere-se também uma maior

comparação da stevia com outras substâncias antioxidantes e adoçantes comerciais.

Contribuições por Autor

A escrita, a realização experimental deste trabalho e a inclusão de algumas observações são de Larissa Cavalcante Antunes.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesses.

Agradecimentos

Ao Instituto de Química (IQ/UnB) e à Universidade de Brasília pelo incentivo e espaço fornecidos. À minha orientadora, pela oportunidade de pesquisa. Ao grupo do LIAMA, pelo apoio e companheirismo e ao grupo PET-Química/IQ/UnB/MEC pela oportunidade de publicar meu trabalho de Iniciação Científica.

Notas e referências

- 1 V. Peteliuk. L. Rybchuk. [...] O. Lushchak, *Natural sweetener stevia rebaudiana: Functionalities, health benefits and potential risks*, EXCLI Journal Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors, **20**, 1412-1430, 2021.
- 2 A. Saraiva. C. Carrascosa. [...], A. Raposo, *Natural sweeteners: The relevance of food naturalness for consumers, food security aspects, sustainability and health impacts*, International Journal of Environmental Research and Public Health MDPI AG, **17**, 6285, 2020.
- 3 G. Hartog. A.Boots. [...]A. Bast, *Erythritol is a sweet antioxidant*, Nutrition, **26**, n. 4, 449 – 458, 2010.
- 4 L.P. Machado. A. Kohayagawa. [...] L. Yonezawa, *A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária*. Revista de Ciências Agroveterinárias, v. **8**, n. 1, p. 84-94, 2009.
- 5 O. Narsing. P.G. Prabhanakara. K.Balaswamy.A.Satyanarayana. *Antioxidant activity of stevia (Stevia rebaudiana L.). leaf powder and a commercial stevioside powder*, Journal of Food and pharmaceutical Sciences, **2**, 32-38, 2014
- 6 T.R. Ribeiro. N.F.P. Frediani. N. M. Nascimento Júnior, *Artificial and natural sweeteners: Chemical and biological properties, production processes and potential harmful effects*, Revista Virtual de Química, **12**, 5, p. 1278–1318, 2020.
- 7 R. M. Cigala. et al, *Thermodynamic Behavior of Polyalcohols and Speciation Studies in the Presence of Divalent Metal Cations*, Journal of Chemical and Engineering Data, **65**, 5, 2805–2812, 2020.
- 8 R. Apak. [...] E. Çapanoglu, *Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays*, Journal of Agricultural and Food Chemistry American Chemical Society, **64**, 2016.
- 9 F. Shahidi. Y. Zhong, *Measurement of antioxidant activity*, Journal of Functional Foods Elsevier Ltd, **18**, 2015.
- 10 M. N. Maillard. *Determination of the activity of an antioxidant by the DPPH° assay*, AgroParisTech, Massy Campus (Massy, France), Université Paris-Saclay, Chimiactiv.
- 11 N.B. Gaber. S. I. El-Dahy. E.A. Shalaby, *Comparison of ABTS, DPPH, permanganate, and methylene blue assays for determining antioxidant potential of successive extracts from pomegranate and guava residues*, Biomass Conversion and Biorefinery, **13**, 5, 4011–4020, 2023.
- 12 I.G. Munteanu. C. Apetrei, *Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review*. International Journal of Molecular Sciences MDPI AG, 2021.